

**Untersuchungen über die Cholinesterase-Restaktivität
des menschlichen Serums bei Vergiftung mit E 600 in
verschiedenen Konzentrationen**

von

WALTRAUD ALTHOFF-FAULBAUM
aus Mannheim

1972 # 328



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548401_0047

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

**Untersuchungen über die Cholinesterase-Restaktivität
des menschlichen Serums bei Vergiftung mit E 600 in
verschiedenen Konzentrationen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität

zu

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

WALTRAUD ALTHOFF-FAULBAUM

aus Mannheim

Gedruckt mit der Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. med. G. Koch
Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

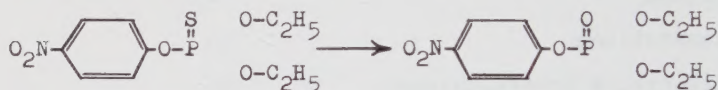
Tag der mündlichen Prüfung: 9. Mai 1972

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
A) Einleitung	4
B) Problemstellung	10
C) Experimentelle Untersuchungen	11
D) Ergebnisse und statistische Auswertung	15
E) Diskussion	25
F) Zusammenfassung	28
G) Literaturverzeichnis	29

A) Einleitung

Im Warmblütlerorganismus entsteht durch Austausch von Schwefel gegen Sauerstoff aus E 605 (O,O Diäthyl, O- (p- nitrophenyl) - thionophosphat) E 600 (O,O-Diäthyl, O- (p-nitrophenyl) phosphat):



Die stark giftige Wirkung von E 605 in vivo beruht zum großen Teil auf einer irreversiblen Hemmung der Acetylcholinesterase.

Die Wirkung auf andere Fermente ist unterschiedlich. Aldrige (1953 a) untersuchte Serumesterasen bei Kaninchen, Ratte und Pferd und fand dabei hinsichtlich ihrer Hemmbarkeit mit E 600 eine A- und eine B- Esterase.

Die A-Esterasen werden durch E 600 nicht gehemmt, während die B-Esterasen in einer E 600-Konzentration von 10^{-7} bis 10^{-8} molar gehemmt werden.

Er konnte das Vorkommen von A-Esterasen bei 10 verschiedenen Tierarten und beim Menschen nachweisen. Wenig später fand Aldrige (1953 b) bei Kaninchen, Ratte und Pferd ein E 600-spaltendes Enzym, das sich als identisch mit der früher beschriebenen A-Esterase erwies.

Augustinsson und Heimbürger (1954) berichteten über ein organische Phosphorverbindungen hydrolysierendes Ferment bei 7 verschiedenen Tierarten und beim Menschen, das sie "Phosphorylphosphatase" nannten. Sie fanden eine verminderte Hemmung der Cholinesterase durch Alkylphosphate bei Anwesenheit dieses Fermentes.

Friedberg und Erdmann (1959) beobachteten eine spontane Reaktivierung von durch E 600 vergifteter Cholinesterasen in vitro bei Pferde- und Rinderseren, bedingt durch eine rasche Zerstörung des E 600 im Serum. Hierfür machten sie gleichfalls eine "Phosphorylphosphatase" verantwortlich.

Auch Skrinjarik-Spoljar und Reiner beschrieben 1968 die fermentative Spaltung von E 600 und Armin (O-Äthyl, O-(p-nitrophenyl)-äthylphosphonat) durch menschliches Serum.

Unabhängig davon konnte Krisch (1968) bei Untersuchungen an Seren von je 25 Männern und Frauen mit einer E 600-spaltenden Aktivität (38-190 μ Mol pro min. und Liter Serum, pH 11,0) zwei sich überlagernde Gruppen erkennen, die sich durch die Höhe der Esteraseaktivität unterscheiden.

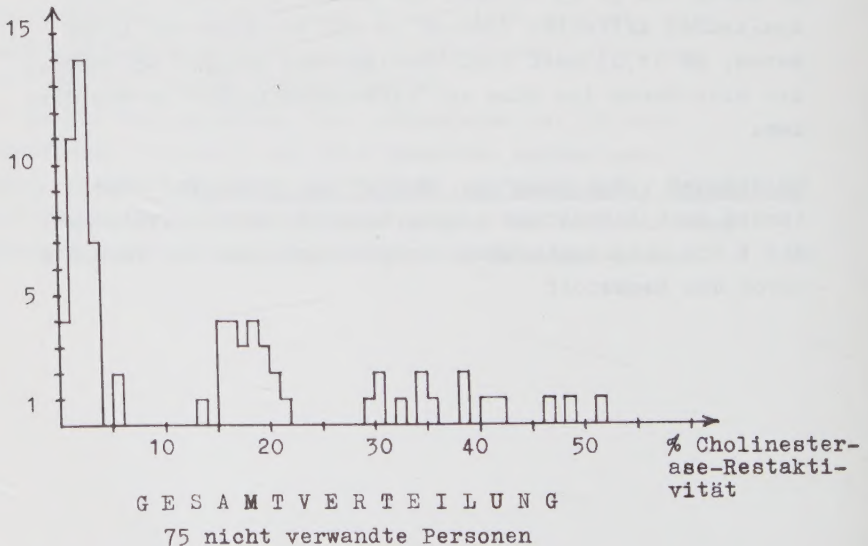
Geldmacher v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) fanden nach Inkubation menschlicher Serumcholinesterase mit E 600 unterschiedliche vergiftungsgrade des Ferments durch den Hemmstoff.

Systematische Untersuchungen (Geldmacher- v. Mallinckrodt und Lindorf (1969) ergaben bei Messungen der Cholinesteraseaktivität (Warburg-Apparatur; Substrat Acetylcholinchlorid; $t : 37^{\circ} \text{C}$, $\text{pH} = 7,2$) von 75 Seren nicht verwandter Personen (41 o, 34 ♀) nach Inkubation mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration ($\text{pH} = 7,7$) eine Aufteilung in drei Gruppen unabhängig von der Ausgangsaktivität mit niedriger (0-5,5 %), mittlerer (13-21 %) und hoher (29-51 %) Restaktivität.

Die bei den 75 Versuchspersonen erhaltenen Einzelwerte sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

Abb. 1:

Anzahl der
Personen

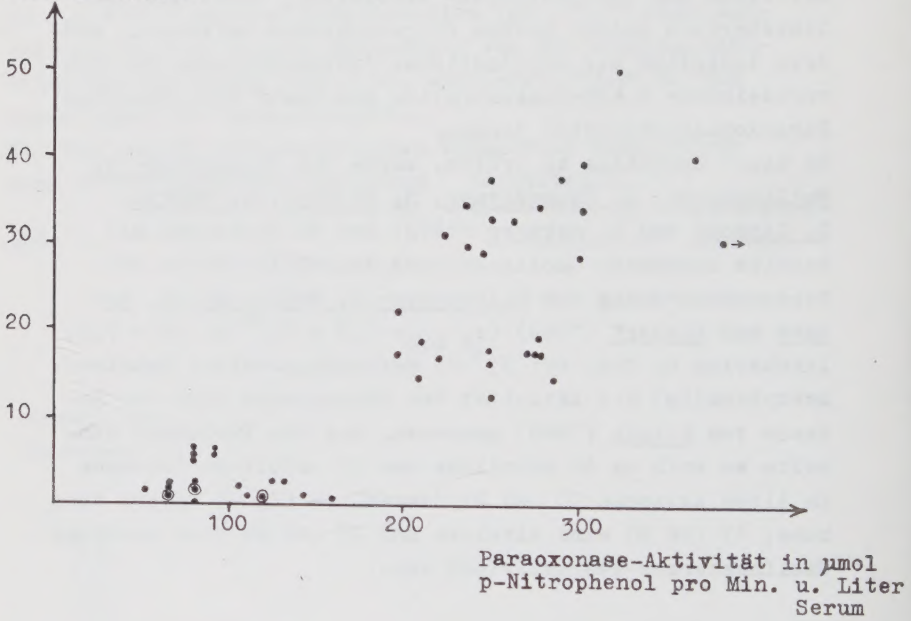


Berücksichtigt man diese Untersuchungen, so ließen sich die gewonnenen Ergebnisse durch die Annahme deuten, daß während des Ablaufs der Cholinesterase-Hemmung durch E 600 Unterschiede einer Paraaxonase-Aktivität die E 600-Konzentration so variieren, daß unterschiedliche Restaktivitäten der Cholinesterase verbleiben, wobei die Cholinesterasen selbst keinen Polymorphismus aufweisen, sondern lediglich als empfindliches Indikatorsystem für die verbleibende E 600-Konzentration und damit die jeweilige Paraaxonase-Aktivität dienen.

Um diese Hypothese zu prüfen, wurde von Geldmacher- v. Mallinckrodt, W. Baumgartner, M. Pétenyi, H. Burgis, H. Lindorf und H. Metzner (1972) bei 50 Probanden mit bereits bekannter Cholinesterase-Restaktivität in der Versuchsanordnung von Geldmacher- v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) ($c_{E\ 600} = 3,2 \times 10^{-8}$ m; pH = 7,7; Inkubation 60 Min. bei 37°C; Warburgapparatur; Substrat: Acetylcholin) die Aktivität der Paraaxonase nach der Methode von Krisch (1968) gemessen. Bei den Probanden handelte es sich um 30 männliche und 20 weibliche Personen im Alter zwischen 10 und 21 Jahren. 14 (28 %) wiesen eine hohe, 13 (26 %) eine mittlere und 23 (46 %) eine niedrige Cholinesterase-Restaktivität auf.

Abb. 2:

Cholinesterase-
Restaktivität
in Prozent der
Normalaktivität



Werte für die Cholinesterase-Restaktivität (in % der Normalaktivität) und die Paraoxonase-Aktivität (in $\mu\text{mol p-Nitrophenol/min} \times \text{Liter Serum}$ nach Krisch) für die 50 untersuchten Personen.

In der Abbildung 2 sind die Ergebnisse der Untersuchung aufgetragen, jeder Punkt entspricht einer Versuchsperson. Auf der Abszisse läßt sich die Paraoxonase-Aktivität in $\mu\text{mol p-Nitrophenol pro Minute} \times \text{Liter Serum}$ ablesen; die Messung erfolgte nach Krisch (1968). Aus der Ordinate kann der jeweils zugehörige Wert der Cholinesterase-Restaktivität entnommen werden, der in % der Normalaktivität angegeben ist und nach Geldmacher v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) gemessen wurde. Die Abbildung läßt deutlich einen stochastischen Zusammenhang von Cholinesterase-Restaktivität und Paraoxonase-Aktivität erkennen. Um diese Zusammenhänge näher zu prüfen, wurde eine statistische Berechnung durchgeführt. Dabei wurden die Ergebnisse nach zunehmender Cholinesterase-Restaktivität geordnet. Es ergab sich ein Korrelationskoeffizient von + 0,82. Dieser macht es sehr wahrscheinlich, daß die unterschiedlichen Vergiftungsgrade menschlicher Serumcholinesterase nach Vergiftung in vitro mit ± 600 in $3,2 \times 10^{-5} \text{m}$ Konzentration zum größten Teil durch Unterschiede in der Paraoxonase-Aktivität im Sinne von Krisch (1968) bedingt sind.

Inwieweit die von Krisch (1968) und von Geldmacher v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) gefundenen individuellen Aktivitätsunterschiede durch einen Polymorphismus eines entsprechenden Fermentes oder durch unterschiedliche Anteile von Paraoxonase-Aktivitäten bedingt sind, müssen weitere Untersuchungen ergeben.

B) Problemstellung

Bei Untersuchungen zur Vergiftbarkeit menschlicher Serum-Cholinesterasen durch E 600 in vitro nach der Methode von Friedberg und Sakai (1958) in der Warburg-Apparatur fanden Geldmacher- v. Mallinckrodt und Lindorf (1969) und Geldmacher- v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) nach der Inkubation mit E 600 in $1,6 \times 10^{-7}$ molar über eine Stunde bei 37° C in allen Fällen eine völlige Vergiftung der Acetylcholin-spaltenden Serumfermente.

Bei Inkubation von 75 Seren nicht verwandter Personen (41 o, 34 ♀) mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration dagegen waren nicht alle Seren völlig vergiftet.

Es zeigte sich vielmehr eine unterschiedlich große Restaktivität, die eine Verteilung auf drei Gruppen nahelegte.

Um die gefundenen Unterschiede der Restaktivität der Serumcholinesterasen weiter zu erforschen, wurde in der vorliegenden Arbeit Serum von 18 Probanden nach Inkubation in vitro mit abnehmender E 600-Konzentration untersucht ($C_1 = 5,3 \times 10^{-8}$ molar bis $C_6 = 0,8 \times 10^{-8}$ molar).

Ziel dieser Untersuchungen war es, diejenige E 600-Konzentration festzustellen, bei der sich die drei Gruppen am deutlichsten trennen lassen.

C) Experimentelle Untersuchung

a) Versuchsanordnung

Zur Bestimmung der Cholinesterase-Restaktivität benutzen wir die manometrische Methode von Ammon (1934) in der Modifikation von Friedberg und Sakai (1958) mit einer Warburg-Apparatur Typ V 85 der Firma Braun-Melsungen, bei einem pH-Wert von 7,7 bei Inkubation und 7,2 bei der Messung.

Frisch entnommene Blutproben gesunder Erwachsener wurden ca. eine halbe Stunde nach Entnahme 15 Min. bei 1500 U/min zentrifugiert. Das erhaltene Serum wurde abgetrennt, im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt und meistens am folgenden Tag untersucht.

Da ein Versuch ungefähr vier Stunden dauert und das Serum für mehrere Versuche ausreicht, konnte es vorkommen, daß das Serum bis zu 14 Tagen bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt wurde. Nach Lindorf (1971) wirkt sich das nicht auf die Ergebnisse aus.

Es wurde streng darauf geachtet, daß keine hämolytischen Seren Verwendung fanden.

Die Bedingungen der Inkubation wurden auf die nachfolgende Aktivitätsmessung abgestimmt.

b) Inkubation mit E 600

Für die Vergiftung des Fermentes wurden sechs verschiedene E 600-Konzentrationen verwendet.

Wir gaben zunächst 1 μ E 600 auf:

I	60 ml	H ₂ O
II	120 ml	H ₂ O
III	180 ml	H ₂ O
IV	240 ml	H ₂ O
V	300 ml	H ₂ O
VI	380 ml	H ₂ O

Dann brachten wir je 10 ml der Lösungen I - VI zu je 13,5 ml der als Verdünnungsflüssigkeit für das Serum verwendeten Salzlösung.

Die Verdünnungsflüssigkeit bestand aus einem Gemisch von 10 Teilen einer 0,9 %igen Kochsalzlösung mit 3 Teilen einer 1,26 %igen Natriumbicarbonatlösung. Diese Lösung wurde jede Woche neu hergestellt.

Zur Vergiftung wurden jeweils 0,15 ml Serum mit 1,35 ml der E 600-haltigen Verdünnungsflüssigkeit (I - VI) inkubiert.

In den Inkubationsansätzen ergeben sich dann folgende E 600-Konzentrationen:

bei	I	:	C ₁	=	5,3	x	10 ⁻⁸	molar
bei	II	:	C ₂	=	2,7	x	10 ⁻⁸	molar
bei	III	:	C ₃	=	1,6	x	10 ⁻⁸	molar
bei	IV	:	C ₄	=	1,3	x	10 ⁻⁸	molar
bei	V	:	C ₅	=	1,1	x	10 ⁻⁸	molar
bei	VI	:	C ₆	=	0,8	x	10 ⁻⁸	molar

Von den Inkubationsansätzen wurden je 0,5 ml in die Anhangsbirne eines Warburggefäßes gegeben, in dessen Hauptraum 1,5 ml einer 0,5 %igen wäßrigen Lösung von Acetylcholinchlorid war.

Um die Eigenhydrolyse gering zu halten, wurde die Lösung alle drei Tage durch Lösen von Reinsubstanz in destilliertem Wasser frisch hergestellt. Dann wurden die Ansätze in ein Wasserbad von 37°C gebracht und mit einem Gemisch aus 5 % CO_2 und 95 % N_2 20 min. unter Schütteln des Gerätes (Schüttelfrequenz = 100 pro min.) begast.

Um einen Temperatúrausgleich der begasten Flüssigkeiten zu erzielen, warteten wir nach der Begasung 5 min., wobei das Gerät nicht schüttelte.

c) Messung der Cholinesterase-Aktivität

Nach einer Gesamtinkubationsdauer von 60 Min. (35 Min. vom Vergiften des Serums bis zum Einhängen der Tröge ins Wasserbad bei 20°C ; 20 Min. begasen; 5 Min. Temperatúrausgleich bei 37°C) wurde die Serumverdünnung der Anhangsbirne in den Hauptraum der Warburg-Gefäße gekippt, 3 Min. geschüttelt und dann das System verschlossen.

Der Manometerstand wurde sodann eine Stunde lang alle 15 Min. abgelesen.

Für jeden Versuch standen 14 Manometer zur Verfügung. Die Seren wurden in Doppelbestimmung mit und ohne E 600 auf ihre Aktivität getestet. Die Angabe der Aktivität

erfolgt in $\mu\text{l CO}_2$ pro Stunde, bezogen auf 0,15 ml Serum. Zur Kontrolle liefen pro Versuch zwei Leerwerte mit, bei denen die Anhangsbirne des Kölbchens nur Verdünnungslösung enthielt, wodurch die Eigenhydrolyse des Acetylcholins erfaßt wurde. Insgesamt konnte also in einem Versuchsablauf ein Serum bei 5 verschiedenen Verdünnungen geprüft werden oder Seren von 3 Personen bei einer Verdünnung.

Es wurde streng darauf geachtet, daß der Anstieg der Manometersäulen linear erfolgte. War diese Forderung erfüllt, wurden die 60 Min.-Werte (Endwerte) mit der jeweils entsprechenden Manometerkonstanten (Süllmann 1964) multipliziert und das arithmetische Mittel aus der Doppelmessung bestimmt. Ebenso wurde der Leerwert errechnet und von den Werten bei Anwesenheit von Ferment abgezogen. Setzt man die so erhaltenen Ergebnisse von mit E 600 vergiftetem Serum und dem Normalserum in Beziehung, bekommt man die gesuchte Restaktivität der Serumcholinesterase in Prozent des Normalwertes.

D) Ergebnisse und statistische Auswertung

Alle 18 Probanden waren gesund, 11 waren männlichen Geschlechtes 7 weiblich.

Die Ergebnisse, die bei jeder Person einen Mittelwert aus zwei und teilweise drei Versuchsergebnissen darstellen, zeigen, wie erwartet, schon optisch eine Aufteilung in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Restaktivität. Jedoch ist diese Dreiteilung nicht bei jeder der sechs Verdünnungen gleichmäßig zu erkennen (siehe Tab. 1).

Überträgt man die Ergebnisse von Tab. 1 in ein Koordinatensystem (Abszisse: ml H_2O / ul E 600; Ordinate: $\times$ Restaktivität) und verbindet die einzelnen Meßpunkte, sodaß man für jede Versuchsperson eine Kurve bekommt, so kann man feststellen, daß die Kurven aller niedrigen Typen ähnlich verlaufen, ebenso die Kurven der mittleren Typen und der hohen Typen. Vergleicht man jedoch die Kurvenverläufe der niedrigen Typen mit denen der mittleren und der hohen, so zeigen sich Unterschiede (siehe Abb. 3). Die Kurve der niedrigen Typen ist annähernd S-förmig, die der mittleren eine Zwischenform zwischen einer Geraden und einer S-Kurve, die der hohen Typen verläuft fast linear. (s. Linsmaier, 1972)

Bei Abb. 4 sind die Versuchsergebnisse der Tab. 1 in ein anderes Koordinatensystem übersetzt. Auf der Abszisse ist der neg. Log. der E 600-Konzentration aufgetragen, auf der Ordinate die Restaktivität in % der Norm.

Versuchs- person	I	II	III	IV	V	VI
<u>niedrig</u>						
AJ	1,2	4,7	25,9	36,0	-	51,6
ME	3,4	13,5	26,4	44,3	53,1	-
KI	4,3	17,0	19,4	64,6	58,4	-
SM	5,2	8,4	18,6	29,5	-	46,5
GM	6,4	14,8	26,7	38,7	-	-
WR	7,8	-	13,8	32,6	44,0	46,2
<u>mittel</u>						
KG	11,3	32,9	54,6	52,9	58,5	64,7
SH	12,3	43,8	62,1	67,0	62,2	78,2
LB	13,2	25,0	-	-	-	62,2
GJ	15,3	34,5	38,0	59,0	61,0	82,4
<u>hoch</u>						
MA	24,8	57,6	68,6	77,8	86,9	82,4
LI	25,3	42,2	62,7	73,9	78,1	95,1
FA	27,7	51,1	68,6	72,3	86,8	97,2
RE	28,1	54,3	68,6	77,3	84,7	90,2
KT	31,4	44,9	59,1	74,5	74,7	88,6
FL	31,4	54,5	58,2	62,4	79,1	89,4
MEI	45,4	58,7	64,8	70,1	75,9	87,0
GH	45,9	66,2	69,0	80,1	82,4	80,6

Tabelle 1: Restaktivitäten der Cholinesterase in % der Norm bei E 600-Konzentrationen von $c_1 = 5,3 \times 10^{-8}$ molar bis $c_6 = 0,8 \times 10^{-8}$ molar (I - VI).

Cholinesterase-
Restaktivität
in % der Normal-
aktivität

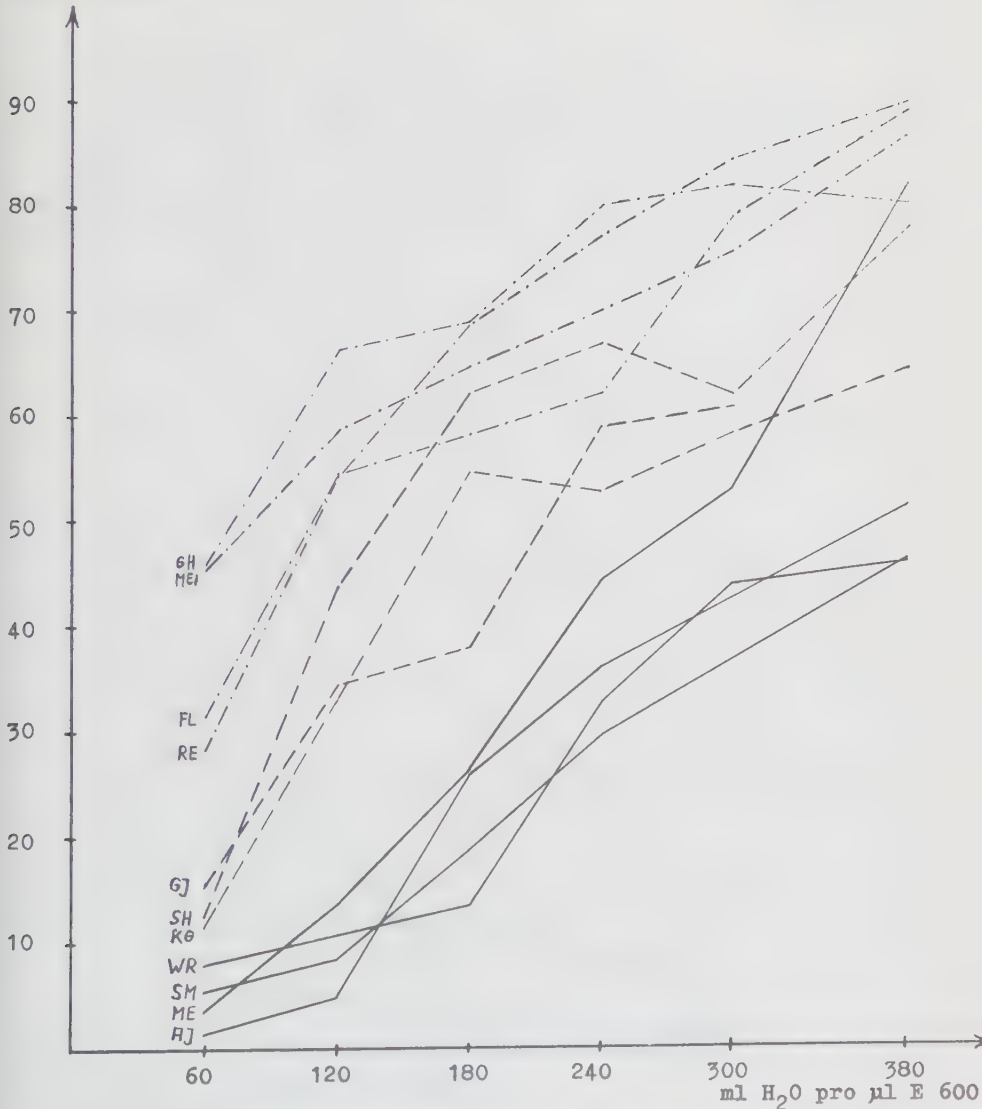


Abb. 3: Restaktivität in % der Norm bei verschiedenen E 600-Verdünnungen

- Niedriger Typ
- - - Mittlerer Typ
- . - . Hoher Typ

Cholinesterase-
Restaktivität
in % der Normal-
aktivität

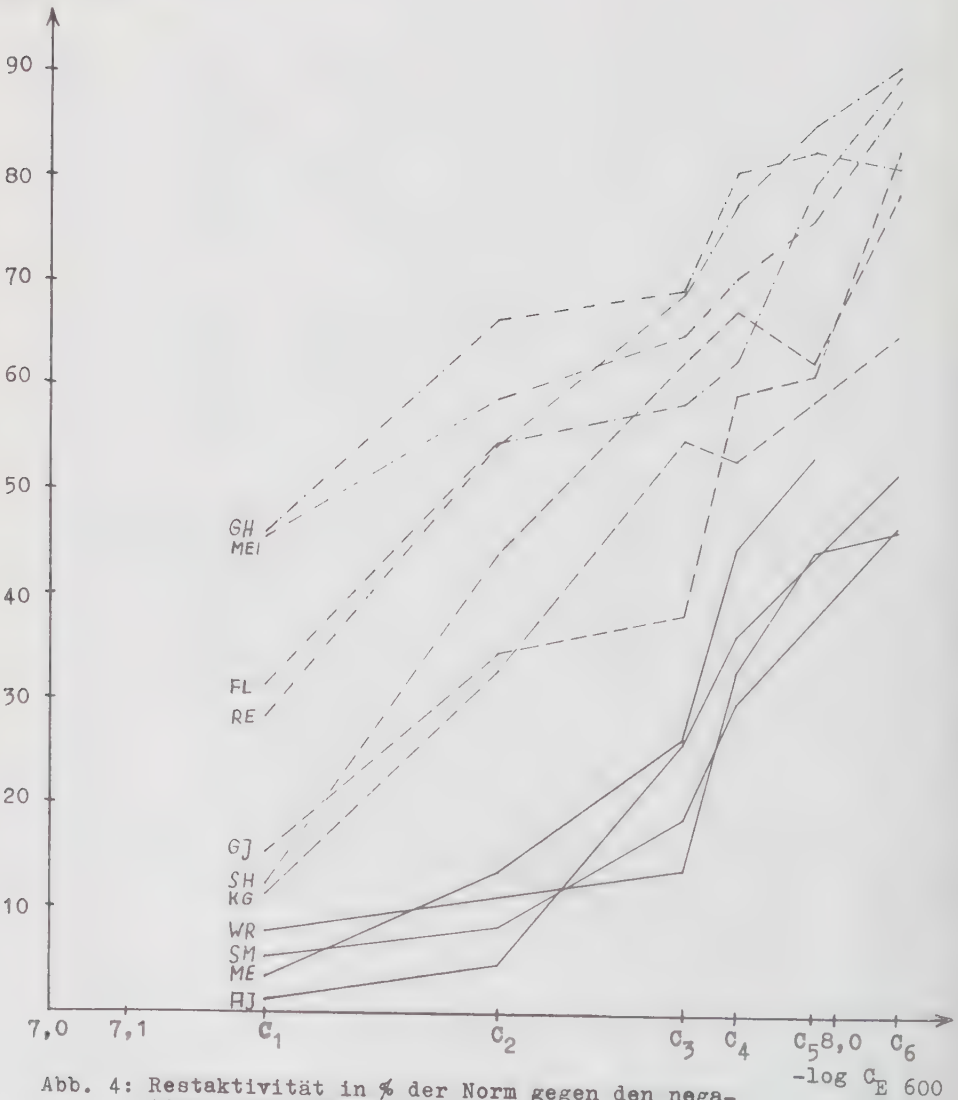


Abb. 4: Restaktivität in % der Norm gegen den negativen Logarithmus der E 600-Konzentration

- Niedriger Typ
- - - Mittlerer Typ
- · - Hoher Typ

Bei der Errechnung der Mittelwerte für die einzelnen Gruppen bei den sechs Verdünnungen ergab sich:

	I		II		III		IV		V		VI	
	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ
H	32,5	8,9	33,7	7,8	64,9	4,5	73,5	6,2	81,1	4,8	88,1	3,1
M	15,0	3,5	32,9	6,9	51,6	12,3	59,6	7,4	60,6	1,7	61,3	0,6
N	4,7	2,3	11,7	5,1	21,8	5,3	40,9	12,2	51,8	1,3	48,1	3,1

Tabelle 2: Mittelwerte der Restaktivitäten der Cholinesterase in % der Norm für die drei Typen bei den verschiedenen Verdünnungen (I - VI).
H= Hoher Typ, M= Mittlerer Typ, N= Niedriger Typ

In Abb. 5 sind die Werte von Tab. 2 in ein Koordinatensystem übertragen, auf dessen Abszisse ml H_2O / μ l $\approx$ 600 und auf dessen Ordinate die Cholinesterase-Restaktivität in % der Normalaktivität aufgetragen wurde.

Aufgrund der unterschiedlichen Kurvenverläufe der niedrigen, mittleren und hohen Typen differieren die Restaktivitätsunterschiede zwischen den drei Gruppen bei den verschiedenen Verdünnungen. Die Zahlen zwischen den Meßpunkten geben die Restaktivitätsunterschiede an. Man ersieht daraus, daß die größten Unterschiede sich befinden bei:

- a) $c_3 = 1,6 \times 10^{-8}$ m (= III. Verdünnung) mit 43,1 % Unterschied
- b) $c_2 = 2,7 \times 10^{-8}$ m (= II. Verdünnung) mit 42,0 % Unterschied
- c) $c_6 = 0,8 \times 10^{-8}$ m (= VI. Verdünnung) mit 40,7 % Unterschied

Da bei der III. Verdünnung zwar der Abstand von der niedrigen zur mittleren Gruppe sehr groß ist (29,8 % Unterschied), aber der Abstand von der mittleren zur hohen Gruppe der kleinste ist, der im gesamten Kurvenverlauf auftritt (13,3 % Unterschied), scheidet diese Verdünnung zur Trennung der drei Gruppen aus.

Bei der II. Verdünnung liegt die mittlere Gruppe sehr günstig zwischen den beiden anderen, der Abstand von der niedrigen zur mittleren Gruppe beträgt 21,2 % Unterschied, von der mittleren zur hohen Gruppe 20,8 %. Somit ist diese Verdünnung zur Trennung der drei Gruppen gut geeignet.

Die VI. Verdünnung eignet sich deshalb weniger gut, weil erstens der Abstand von der mittleren zur hohen Gruppe nicht so groß ist, wie bei der II. Verdünnung (16,9 % Unterschied gegenüber 20,8 %) und zweitens zu vermuten ist, daß die Kurve der niedrigen Typen zwischen der V. und der VI. Verdünnung nicht so steil abfällt, wie es sich nach den Mittelwertberechnungen ergeben hat. Für die Errechnung der Restaktivitäten bei der VI. Verdünnung stand nicht mehr genügend Serum von allen Probanden des niedrigen Typs zur Verfügung. Punkt (VI) der niedrigen Gruppe errechnet sich aus technischen Gründen nur aus drei Versuchsergebnissen, die innerhalb der niedrigen Gruppe bei den übrigen Verdünnungen besonders niedrige Restaktivitäten aufwiesen. Es ist daher anzunehmen, daß der Mittelwert des niedrigen Typs bei der VI. Verdünnung höher liegt und daher die Kurve von Punkt (V) nach Punkt (VI) nicht abfällt, sondern ge-

ringförmig steigt oder zumindest auf gleicher Höhe verläuft (siehe Abb. 5)

Zusammenfassend kann man sagen, daß zur Trennung der drei Gruppen die Konzentration $c_2 = 2,7 \times 10^{-8}$ m am besten geeignet ist. Eine wichtige Voraussetzung dafür ist auch erfüllt, die Student'sche T-Probe hat ergeben, daß die Mittelwerte signifikant verschieden sind.

Hat man aber einen Wert, der sich bei der Konzentration $c_2 = 2,7 \times 10^{-8}$ m nicht sicher einer der drei Gruppen zuordnen läßt, dann ist zur Nachprüfung zwischen der niedrigen und der mittleren Gruppe die Konzentration $c_3 = 1,6 \times 10^{-8}$ m und zwischen der mittleren und der hohen Gruppe die Konzentration $c_5 = 1,1 \times 10^{-8}$ m geeignet, weil bei c_3 der Restaktivitätsunterschied zwischen der niedrigen und der mittleren Gruppe am größten ist. Bei c_5 ist der Restaktivitätsunterschied zwischen der mittleren und hohen Gruppe zwar nicht größer als bei c_2 , jedoch fast gleich groß (20,8 % gegenüber 20,5 %) und somit für Kontrollzwecke gut geeignet.

Cholinesterase-
Restaktivität
in % der Normal-
aktivität

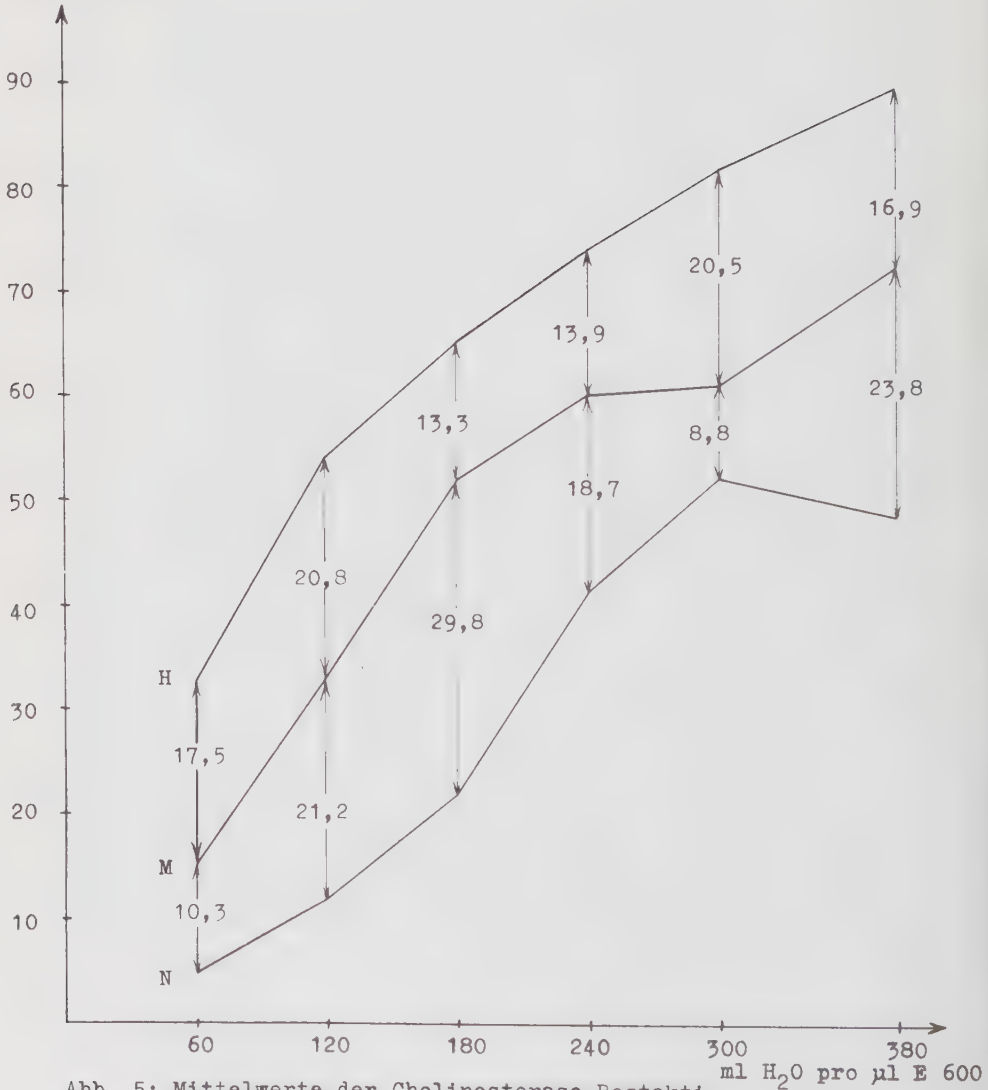


Abb. 5: Mittelwerte der Cholinesterase-Restaktivitäten in % der Norm bei verschiedenen E 600-Verdünnungen

N - Niedriger Typ
M - Mittlerer Typ
H - Hoher Typ

Cholinesterase-
Restaktivität
in % der Normal-
aktivität

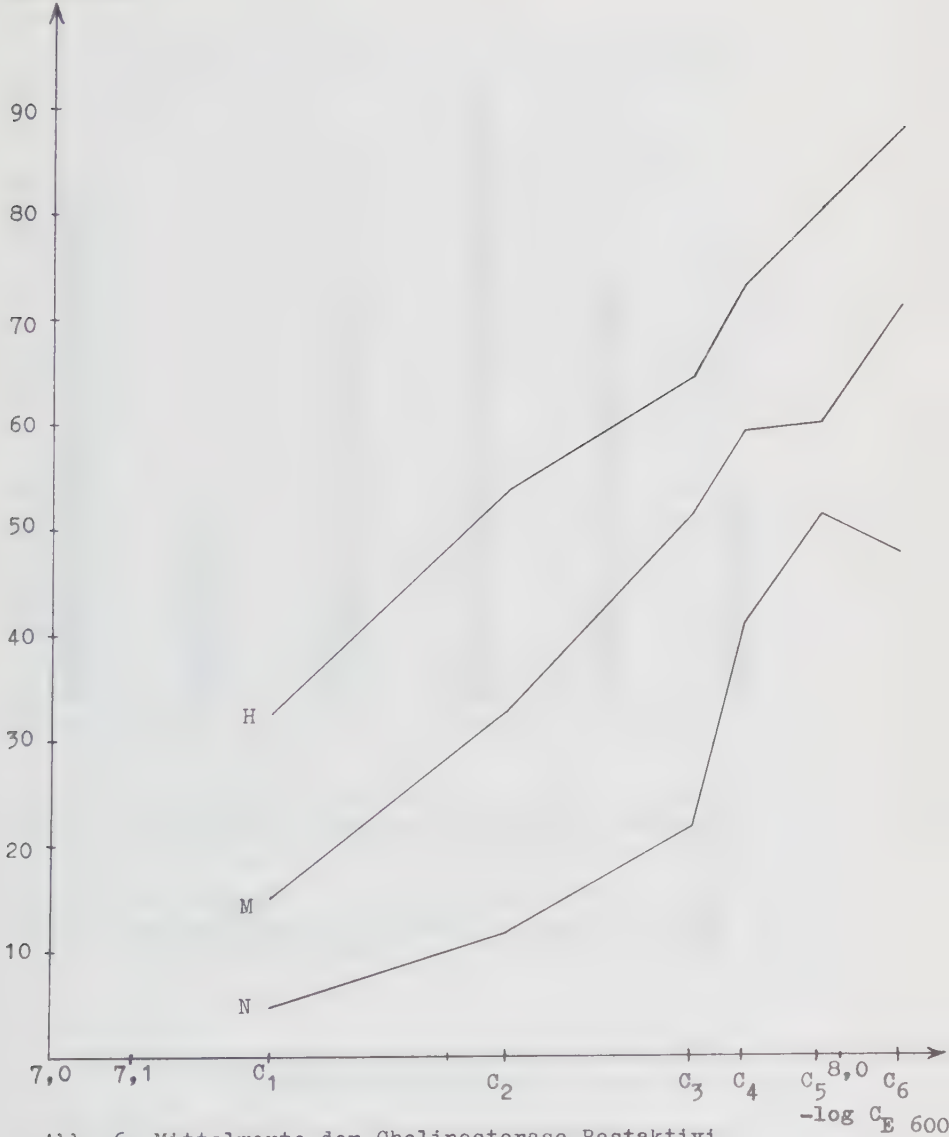


Abb. 6: Mittelwerte der Cholinesterase-Restaktivitäten in % der Norm gegen den negativen Logarithmus der E 600-Konzentration

N - Niedriger Typ
M - Mittlerer Typ
H - Hoher Typ

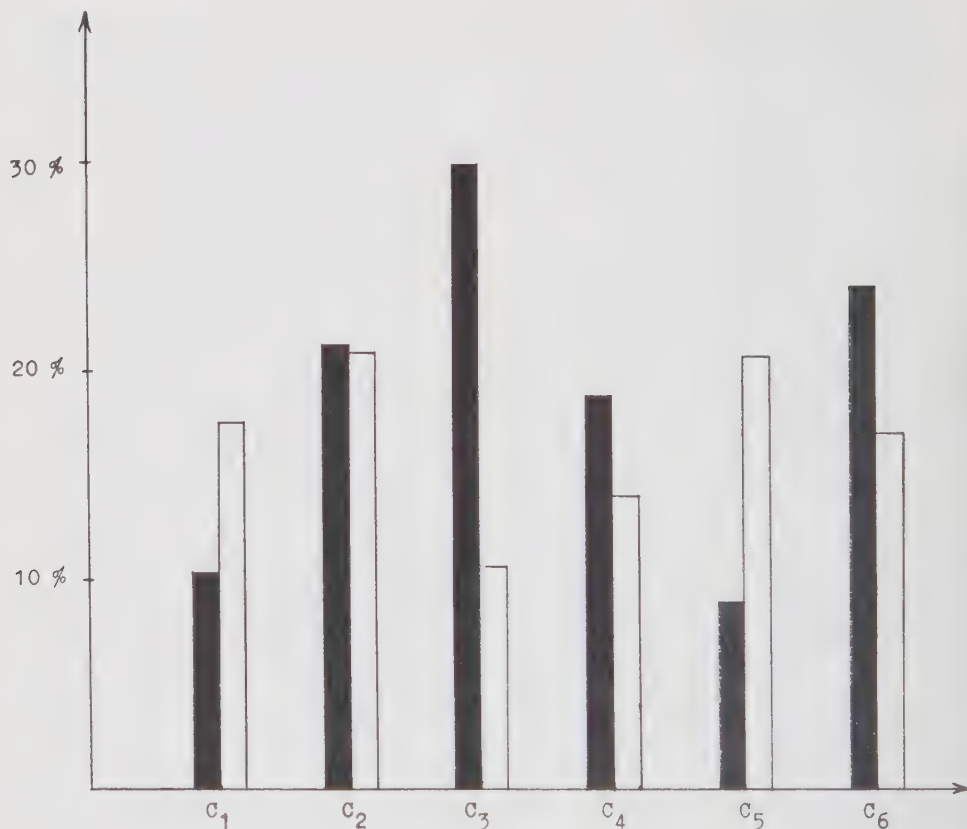


Abb. 7: Restaktivitätsunterschiede zwischen den drei Gruppen bei den sechs E 600-Konzentrationen



Restaktivitätsunterschied zwischen der niedrigen und der mittleren Gruppe



Restaktivitätsunterschied zwischen der mittleren und der hohen Gruppe

E) Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden Seren von 18 Personen auf ihre unterschiedlichen Cholinesterase-Restaktivitäten bei Vergiftung mit steigender E 600-Konzentration untersucht. Ziel der Untersuchungen war es, diejenige E 600-Konzentration zu finden, bei der sich die drei schon bekannten Gruppen am besten unterscheiden lassen. Die Auswertung der Versuchsergebnisse ergab eine Aufteilung der 18 Probanden in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Cholinesterase-Restaktivität, wobei die Restaktivitätsunterschiede zwischen den Gruppen je nach der verwendeten E 600-Konzentration variierten. Bei einer Konzentration von $c = 2,7 \times 10^{-8}$ m zeigt sich die Unterscheidung in drei Gruppen am deutlichsten.

Ebenfalls ergab sich, daß die Kurven der drei Typen, welche die Beziehung zwischen der Restaktivität und dem neg. Log. der E 600-Konzentration wiedergeben, unterschiedliche verläufe aufweisen: Die Kurve der hohen Typen verläuft fast linear (der Korrelationskoeffizient beträgt 0,97), die Kurve der niedrigen Typen ist annähernd S-förmig. Bei den mittleren Typen haben wir eine Zwischenform zwischen einer Geraden und einer S-Kurve. (siehe Linsmaier 1972).

Bisher wurde nur die Hone der Restaktivität zur Trennung der drei Gruppen in Betracht gezogen. Eine andere Möglichkeit ist es, bei konstanter Restaktivität (z.B. 50 %) die drei Typen in Bezug auf die Konzentration zu untersuchen, da zur Charakterisierung der Toxizität von Alkyl-

phosphaten oft die molare Konzentration an Wirkstoff angegeben wird, die in der Lage ist, die Aktivität von Cholinesterase auf die Hälfte zu erniedrigen (I_{50}). Für E 600 und Serumcholinesterase sind in der Literatur bereits einige Werte bekannt:

herkunft des Serum	I_{50}	Autor
Pferd	$1,4 \times 10^{-8}$	Heath (1961)
Katze	$2,03 \times 10^{-8}$	Heath (1961)
Mensch	$0,87 \times 10^{-8}$	Rosival und Mitarbeiter (1959)

Tab. 3

Nach unseren Versuchen beträgt bei den hohen Typen der I_{50} -Wert $2,7 \times 10^{-8}$, bei den mittleren $1,6 \times 10^{-8}$ und bei den niedrigen $0,95 \times 10^{-8}$.

Interessant ist, daß im Bereich der E 600-Konzentration, bei welcher die Cholinesterase-Restaktivität 50 % beträgt, die Streuung der Einzelwerte am größten ist (siehe Tab. 2). Berücksichtigt man, daß diese Bereiche in dem steilsten Anteil der Kurve liegen, so erscheint die breitere Streuung verständlich.

Es wäre also durchaus auch eine Möglichkeit, die drei Typen aufgrund der verschiedenen I_{50} -Werte zu trennen.

Da aber dieses Verfahren von der Versuchsanordnung her komplizierter und mit einem größeren Zeitaufwand verbunden ist und zudem eine breitere Streuung zu erwarten wäre, erscheint die Trennung der drei Gruppen nach der Höhe der Restaktivität am geeignetsten.

F) Zusammenfassung

Wir haben Serum von 18 Personen, sechs mit niedriger, vier mit mittlerer und acht mit hoher Restaktivität bei Vergiftung mit E 600-Konzentrationen von $c_1 = 5,3 \times 10^{-8}$ m bis $c_6 = 0,8 \times 10^{-8}$ m untersucht, um diejenige Konzentration zu finden, bei der sich die drei Gruppen am besten unterscheiden lassen. Es ergab sich, daß eine Konzentration von $c = 2,7 \times 10^{-8}$ m für die Trennung der drei Gruppen am besten geeignet ist. Zur Überprüfung von unsicheren Einzelwerten, die zwischen der niedrigen und der mittleren Gruppe liegen, kann man noch eine Konzentration von $1,0 \times 10^{-8}$ m hinzuziehen, da bei dieser Konzentration die Restaktivitätsunterschiede zwischen dem niedrigen und mittlerem Typ am größten sind.

G) Literaturverzeichnis

1. Aldrige, W.N.
Serum esterases. 1. Tow types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination.
Biochem. J. 53, 110 (1953 a)
2. Aldrige, W.N.
Serum esterases. 2. An enzyme hydrolysing p-nitrophenyl phosphate (E 600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera.
Biochem. J. 53, 117 (1953 b)
3. Ammon, R.
Die fermentative Spaltung des Acetylcholins.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 233, 486 (1934)
4. Augustinsson, K.-B. and Heimbürger, G.
The enzymic hydrolysis of organophosphorus compounds.
Biochem. Biophys. Acta 13, 303 (1954 a)
5. Friedberg, K. D., Erdmann, W.D.
Spontane Reaktivierung der durch Alkylphosphate (Paraoxon, Systox, Isosystox) blockierten Cholin-esterase in vitro.
Arch. exp. Path. und Pharmak. 237, 1 (1959)

6. Friedberg, K.D., F. Sakai
Spezifischer Nachweis von Vergiftungen mit Alkylphosphaten (E 600, E 605, Systox) in Blut und Hirngewebe mit Hilfe eines fermentreaktivierenden Antidots (Pyridin-Aldoxin-Methjodid PAM).
Dtsch. Z. f. ger. Med. 47, 580 (1958)
7. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M., W. Baumgartner
M. Petenyi, H. Burgis, H. Lindorf u. H. Metzner
Korrelation zwischen der unterschiedlichen Vergiftbarkeit der Serum-Cholinesterase durch E 600 und der Aktivität des E 600-spaltenden Enzym-Systems in menschlichen Seren.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 353, (1972)
8. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M. und H.H. Lindorf
Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serumcholinesterasen mit Alkylphosphaten.
Vortrag auf der 48. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Berlin 6. - 9. 10. 1969
9. Geldmacher-v. Mallinckrodt, M., U. Raoast und H.H. Lindorf
Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serumcholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat).
Arch. Toxikol. 25, 223 (1969)
10. Goedde, H.W., A.Doenicke und K. Altland
Pseudocholinesterasen.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York

11. Krisch, K.
Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenyl-
phosphat durch menschliches Serum.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 6, 41 (1968)
12. Lindorf, H.H.
Dissertation
Erlangen 1971
13. Skrinjarik-Spoljar, M. and E. Reiner
Hydrolysis of diethyl-p-nitrophenyl-phosphate and
ethyl-p-nitrophenyl-ethylphosphonate by human sera.
Biochem. Biophys. Acta 165, 289 (1968)
14. Süllmann, H.
Manometrische Methoden zur Untersuchung des Gewebs-
stoffwechsels.
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-
chemischen Analyse Band VI A, Teil A
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir Herrn Prof.
Dr. Dr. E. Weinig für die Arbeitsmöglichkeit in
seinem Institut meinen Dank auszusprechen.

Frau Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher- v. Mallinckrodt
gilt mein ganz besonderer Dank für die Überlassung
des Themas, ihre außergewöhnlich große Hilfsbereit-
schaft und den zu jeder Zeit so freundlich erteilten
Rat.

Frau M. Pétenyi bin ich für die Hilfe bei der statisti-
schen Auswertung verpflichtet; ebenso Herrn Dr. D. Lorke,
Leiter des Institutes für Toxikologie der Farbenfabriken
Bayer AG für die Überlassung von reinem E 600.

Lebenslauf

Am 3. 2. 1948 wurde ich als einziges Kind des Polizeibeamten Otto Faulbaum und seiner Ehefrau Amalie Faulbaum, geb. Ettler, in Mannheim geboren. Von 1954 bis 1955 besuchte ich dort die Volksschule. Wegen einer Versetzung meines Vaters nach Heilbronn trat ich dann in die Volksschule Heilbronn ein und wechselte 1958 in das Elly-Heuss-Knapp-Gymnasium in Heilbronn, wo ich 1966 das Abitur ablegte. Im November 1966 begann ich an der Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg das Studium der Zahnmedizin. Im Sommer 1971 bestand ich die Zahnmedizinische Staatsprüfung. Am 30. 9. 1971 heiratete ich den Rechtsreferendar Werner Althoff.



Buchdruckerei Ludwig Müller Erlangen Fahrstraße 5